Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bern
(Direktor: Prof. Dr. B. Walthard)
und
dem Röntgeninstitut des Inselspitales und der Universität Bern
(Direktor: Prof. Dr. A. Zuppinger)

Beitrag zur Morphologie der pathologisch veränderten menschlichen Schilddrüse im Elektronenmikroskop. Vergleich mit der normalen und der durch Propylthiouracil veränderten Rattenschilddrüse.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Bern

vorgelegt von

Bernard Garnier

von Les Enfers und Saignelégier (Kt. Bern)

19 56

VERLAG VON S. KARGER IN BASEL

Auf Antrag von Herrn Prof. Dr. *B. Walthard* von der Medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 13. Juli 1955.

Der Dekan der Medizinischen Fakultät
Prof. Dr. *B. Walthard.*

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Sonderdruck aus «Schweizerische Zeitschrift für Allgemeine Pathologie und Bakteriologie», Vol. 19, No. 2 (1956).

Die ungeahnte Verfeinerung der elektronenmikroskopischen Untersuchungstechnik für tierisches Gewebe, insbesondere die Herabsetzung der Schnittdicke auf 100 bis 200 A, hat bereits zu einer weitgehenden Aufklärung der bei Osmiumfixation sich ergebenden, submikroskopischen Zellstruktur geführt. Ermutigend ist dabei die Tatsache, daß mit zunehmendem Auflösungsvermögen auch eine zunehmende Übereinstimmung der Beobachtungen erzielt wurde.

Unter den zahlreichen elektronenmikroskopischen Studien an Gewebsschnitten finden sich auch mehrere Publikationen über die submikroskopische Struktur des Schilddrüsenepithels bei Nagetieren. Durch Aktivierung mit thyreotropem Hormon oder durch Kälteeinfluß wie auch durch Thiouracilbehandlung wurde vornehmlich eine Abklärung der in der Schilddrüse besonders komplexen Sekretionsvorgänge angestrebt *(Braunsteiner, Fellinger* und *Pakesch; Dempsey* und *Peterson; Monroe* und *Weber, Zampi* und *Ignesti)*. Die submikroskopische Struktur des menschlichen Schilddrüsengewebes wurde unseres Wissens elektronenmikroskopisch bisher nur von *Noseda* und *Levitt* erforscht.

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit der submikroskopischen Struktur pathologisch veränderter Schilddrüsen des Menschen. Zum Vergleich und besseren Verständnis unserer Bilder wurde in einer kleinen Versuchsserie an Ratten die submikroskopische Struktur der normalen und der durch längerdauernde und hochdosierte Propylthiouracilverabreichung beeinflußten Schilddrüse untersucht.

Material und Methode.

Zur Untersuchung menschlicher Schilddrüsen wurden zwölf speziell ausgewählte, lebensfrische Strumectomiepräparate verwendet. Die histologische Diagnose wurde durch Untersuchung im Hämalaun-Eosin-Präparat sichergestellt. Die Beschaffung des lebensfrischen Materials verdanken wir dem Entgegenkommen der Chirurgischen Universitätsklinik Bern (Direktor: Prof. Dr. *K. Lenggenhager*) und von Herrn Prof. Dr. *M. Saegesser.*

Für die experimentellen Vergleichsuntersuchungen verwendeten wir zwölf, ca. 50 g schwere, weibliche Ratten, von denen sechs während zwei, drei und vier Wochen täglich 2 mg Propylthiouracil[1] in wässeriger Lösung mit der Magensonde erhielten. Die übrigen Ratten dienten als Kontrollen, wobei das eine dieser Tiere zum Zwecke einer geringgradigen Aktivierung der Schilddrüsenfunktion drei Tage lang bei + 2° C gehalten wurde.

Die Fixation des lebensfrischen Materials erfolgte teils in 1—2% wässeriger Osmiumsäurelösung, teils in 2%, nach der Vorschrift von *Palade* gepufferter Osmiumsäurelösung während 24 bzw. 4 Stunden. Nach der Fixation wurde das Material während einer Stunde in fließendem Brunnenwasser gewaschen, hernach in der aufsteigenden Alkoholreihe (70%, 95%, Alc. abs. je 30 Minuten) entwässert und über 50% Alkohol-Metacrylat-Gemisch in der üblichen Weise nach *Newman* in Butyl-Methyl-Metacrylat-Gemisch durch Polymerisation bei 45° C unter Zugabe von Benzoyl-Peroxyd als Katalysator eingebettet.

Zur Herstellung der Schnitte diente ein Mikrotom nach *Danon* und *Kellenberger* mit Glasmesser, welches Schnitte von 0,1 μ Dicke liefert. Der relativ hohen Schnittdicke wegen wurde ferner bei einer Anzahl Schnitte das Einbettungsmittel mit Amylacetat herausgelöst. Dabei entstehen bekanntlich, vor allem bei stärkeren Vergrößerungen bedeutungsvolle Artefakte (Vortäuschung einer fibrillären und reticulären Grundstruktur). Bei geringen Vergrößerungen beeinträchtigen diese indessen, sofern man sich ihrer bewußt ist, die Beurteilbarkeit des Bildes kaum.

Anm.: Die Aufnahmen erfolgten am Trüb-Täuber-Mikroskop des Chemischen Institutes der Universität Bern, wobei uns die Herren Dr. *Studer* und Dr. *Schütz* sowie Frau *Roulet* in freundlicher Weise behilflich waren. Die Herstellung der ca. 200 Schnittpräparate und die ca. 150 elektronenmikroskopischen Aufnahmen besorgte Frl. *L. Affolter,* der ich für die umfangreiche Arbeit herzlich danke. Die Ausführung der vorliegenden Arbeit wurde durch die *Fritz Hoffmann-La Roche*-Stiftung ermöglicht.

Ergebnisse.

Da die submikroskopische Struktur der Rattenschilddrüse unter verschiedenen Versuchsbedingungen, wie eingangs erwähnt, bereits mehrfach Thema elektronenmikroskopischer Studien war, beschränken wir uns auf eine kurze Darstellung unserer Befunde, welche weitgehend den Befunden von *Braunsteiner, Fellinger* und *Pakesch, Dempsey* und *Peterson* sowie *Monroe* entsprechen.

[1] Über die Wirkungen bei der Ratte. *S. Astwood* E.B. und Mitarb.

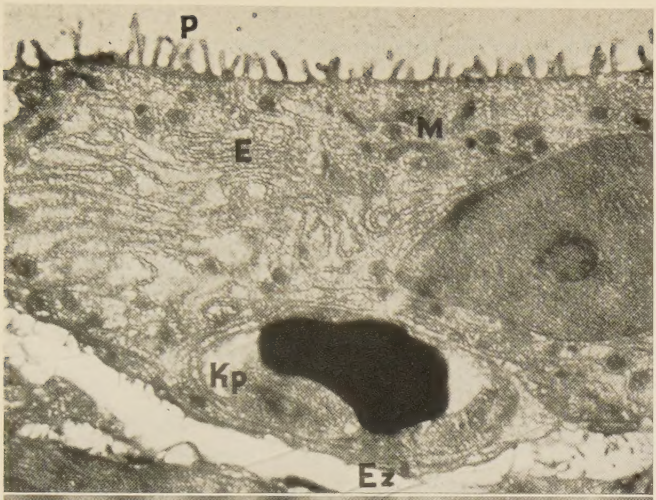

Abb. 1. Einzelne Epithelzelle aus einem normalen Rattenschilddrüsenfollikel (5200×). — Am apicalen Zellsaum Protoplasmaausläufer (P). Im Cytoplasma reichlich lamelliertes Ergastoplasma (E) sowie mittelgroße Mitochondrien (M). Basal, etwas in die Zelle eingestülpt eine Kapillare (Kp) mit einem Erythrocyten (Ez).

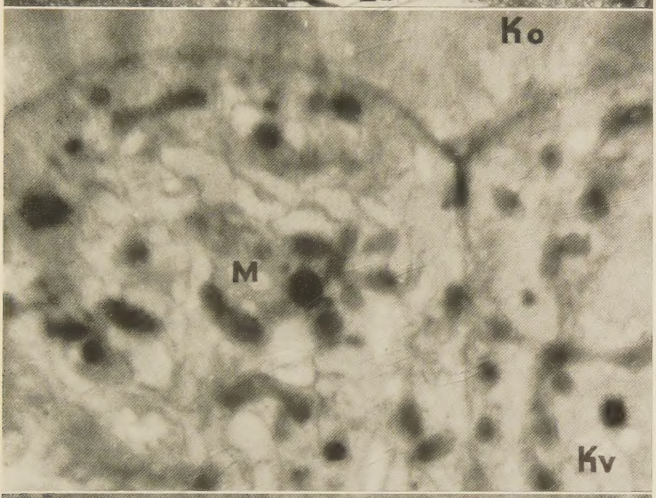

Abb. 2. Epithelzellen aus einem Rattenschilddrüsenfollikel nach zweiwöchiger Thiouracilverabreichung (6200×). Im Cytoplasma der hochzylindrischen Zellen reichlich große Mitochondrien (M) und unregelmäßig geformte Schläuche und Vakuolen (KV), die von einer deutlichen Membran begrenzt und mit einer etwas dünneren Flüssigkeit als das Bläschenkolloid (Ko) gefüllt sind.

Abb. 3. Apicaler Ausschnitt von Follikelepithelzellen einer drei Wochen mit Propylthiouracil behandelten Ratte (4500×). Zell-Kolloid-Grenze aufgelöst. In der Zone zwischen Zellplasma und Kolloid (Ko) Protoplasmaausläufer (P) ohne basale Insertion. Polymorphie der ergastoplasmatischen Hohlräume, bzw. Vakuolen (KV).

Normale Rattenschilddrüse:

Bei der Follikelepithelzelle einer normalen Rattenschilddrüse fallen am apicalen Zellsaum die im Mittel 0,6 μ langen und 0,15 μ dicken protoplasmatischen Fortsätze auf, welche deutlich von der ausgestülpten Zellmembran bedeckt sind. Die innere Struktur dieser Fortsätze entspricht der des angrenzenden Cytoplasmas *(Dempsey)*. An die apicale Zellmembran anschließend, findet sich häufig eine schmale Zone von gleichmäßig strukturiertem Cytoplasma ohne Mitochondrien. Die ungefähr 1,2 μ langen und 0,2 μ breiten Mitochondrien sind im übrigen über das ganze Cytoplasma verteilt, kommen jedoch häufig apical in größerer Zahl vor als basal. Ihre Feinstruktur aus parallelen Doppelmembranen, wie sie von *Sjöstrand* in ultradünnen Schnitten gezeigt wurde, ist in unseren Bildern andeutungsweise zu erkennen. Als weitere, vor allem in sekretorischen Organen vorkommende Komponente des Cytoplasmas findet sich reichlich sogenanntes Ergastoplasma, welches bei geringerer Vergrößerung und bei relativem Ruhezustand der Zelle als System parallel, meist perinucleär verlaufender Doppelmembranen in Erscheinung tritt. Diese cytoplasmatischen Bestandteile sind eingebettet in ein Grundplasma. Auf dessen besondere strukturelle Eigenschaften in ultradünnen Schnitten (0,01 μ) gehen wir nicht weiter ein. Der Zellkern zeigt eine gleichmäßige, feingranuläre Struktur und besitzt eine gut abgrenzbare Kernmembran. Im Kern ein gegenüber der Kernsubstanz dunklerer Nukleolus. Basal, deutlich in die Zelle eingestülpt, sieht man die zugehörige Blutkapillare mit ringsum kontinuierlicher, von der Basalmembran deutlich zu unterscheidender Wand.

Veränderungen der submikroskopischen Struktur der Rattenschilddrüse unter dem Einfluß von Propylthiouracil.

Die lichtmikroskopisch sichtbaren Veränderungen unter Thiouracileinwirkung — Sekretions- und Rückresorptionserscheinungen, celluläre Hypertrophie und Hyperplasie — wurden unter anderem von *McGavack, Means, Ponse* und *Wegelin* zusammengefaßt.

Die submikroskopischen Veränderungen bei relativ geringer Dosierung und kurzdauernder Einwirkung von Propylthiouracil haben *Dempsey* und *Peterson* beschrieben, wobei diese Autoren ihr besonderes Augenmerk auf die Kolloidbildung und dessen möglichen Zusammenhang mit dem Ergastoplasma richteten. Unsere Be-

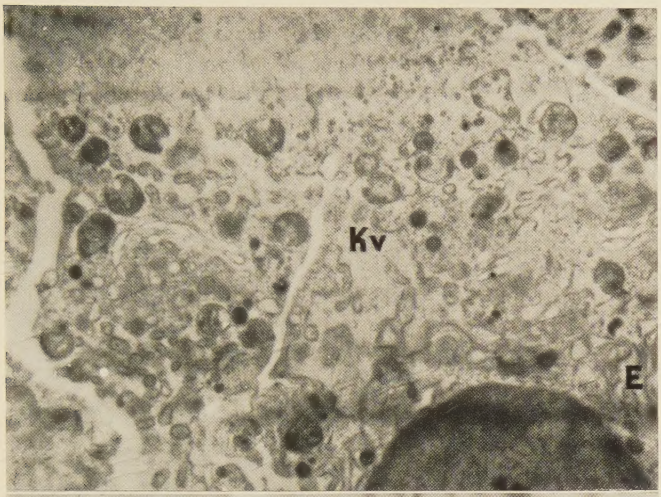

Abb. 4. Follikelepithelzellen einer Rattenschilddrüse nach vierwöchiger Verabreichung von Propylthiouracil. Sektion 4 Tage nach Absetzen der Medikation (8000×). Zell-Kolloid-Grenze wie in Abb. 3. Zahlreiche große und polymorphe sowie einzelne mittelgroße und normal konfigurierte Mitochondrien. Ergastoplasma (E) teils als Doppellamellen, teils als unregelmäßig geformte Schläuche. Intrazellulär eine größere Kolloidansammlung (KV).

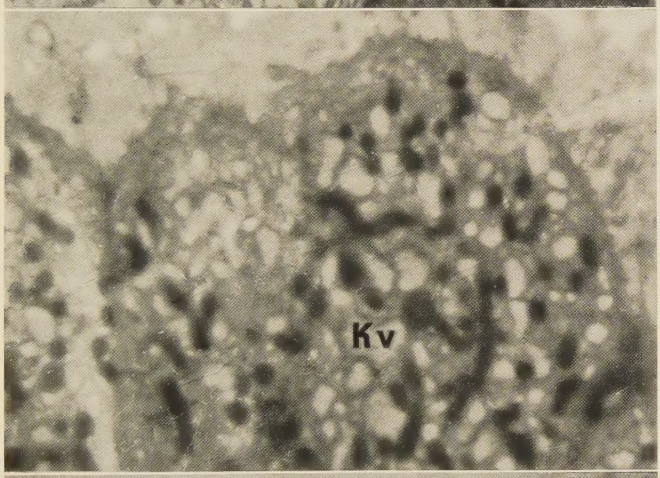

Abb. 5. Apicaler Zellausschnitt einer zwei Wochen mit Propylthiouracil behandelten Rattenschilddrüse (7000×). Die Sekretvakuolen (KV) finden sich teils an der Basis der protoplasmatischen Fortsätze, teils sogar etwas in diese eingeschoben.

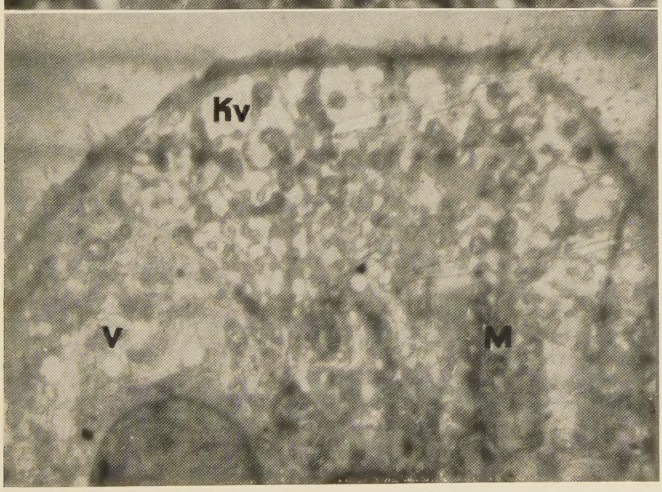

Abb. 6. Ausschnitt von Follikelepithelzellen einer drei Wochen mit Propylthiouracil behandelten Ratte (4500×). Protoplasmaausläufer teils vorhanden, teils fehlend. Kolloidvakuolen (KV) im apicalen Abschnitt der einen Zelle weitgehend konfluiert, Mitochondrien (M) groß und polymorph. In der links angrenzenden Zelle supranukleär einzelne elektronenoptisch leere Vakuolen (V), welche von Bündeln feinster Membranen umgeben sind (Golgi-Substanz?).

obachtungen bei höherer Dosierung und zwei- bis vierwöchiger Verabreichung mögen die Befunde dieser Autoren ergänzen.

Die Protoplasmaausläufer am apicalen Zellsaum zeigen ein sehr wechselndes Bild, indem sie teils sehr lang sind, teils aber auch vollständig fehlen. Dazu kommt, daß eine apicale Zellmembran häufig überhaupt nicht mehr abzugrenzen ist. In der Zone zwischen Zellplasma und Kolloid finden sich dann dichtstehende, den beschriebenen Ausläufern gleichende Gebilde (Abb. 3). Sie sind auf drei Seiten von einer deutlichen Membran umsäumt, während sich auf der vierten, basalen Seite irgendwelche Abgrenzung oder Insertion nicht nachweisen läßt. Die Mitochondrien sind vermehrt und vergrößert. Setzt man die Thiouracilbehandlung während einiger Tage ab, so treten neben den hochgradig polymorphen Mitochondrien auch einzelne mittelgroße und normal konfigurierte Mitochondrien auf (Abb. 4). Die insbesondere von *Dempsey* und *Peterson* beschriebenen, von einer deutlich erkennbaren Membran begrenzten und mit einer kolloidähnlichen Flüssigkeit gefüllten Vakuolen sind äußerst vielgestaltig. (Ein Übertritt dieser Vakuolen in das Bläschenkolloid ist nur selten zu beobachten, wobei neben diesen hellen, von einer Membran eingefaßten Vakuolen an der Zell-Kolloid-Grenze — ein eindeutiger apicaler Zellsaum fehlt in diesen Fällen — sich auch größere, dunkle Tropfen vorfinden.) Vereinzelt sahen wir die hellen Vakuolen an der Basis oder innerhalb der protoplasmatischen Fortsätze liegen (Abb. 5). Bei längerdauernder Thiouracileinwirkung konfluieren die intrazellulären Vakuolen durch Einreißen der sie begrenzenden Membranen zu größeren Flüssigkeitsansammlungen, welche in ihren elektronenoptischen Eigenschaften zunehmend dem Bläschenkolloid entsprechen. Diese Veränderung führt zu einem sehr charakteristischen Bild (Abb. 6), welchem wir in viel deutlicherer Ausprägung bei einer monatelang mit Methylthiouracil vorbehandelten Struma diffusa basedowiana begegnen werden. Hie und da beobachteten wir auch, vornehmlich in der unmittelbar über dem Zellkern (apical) liegenden Zellregion Gruppen elektronenoptisch «leerer» Vakuolen, die von Bündeln feinster Lamellen umsäumt sind (Abb. 6). Wir werden auf die mögliche Deutung und Bewertung dieses Befundes in der Diskussion zurückkommen. Schließlich sei als thiouracilbedingte Veränderung die Vergrößerung und fortschreitende Polymorphie des Kernes und seine vermehrte Dichte gegenüber Elektronenstrahlen erwähnt.

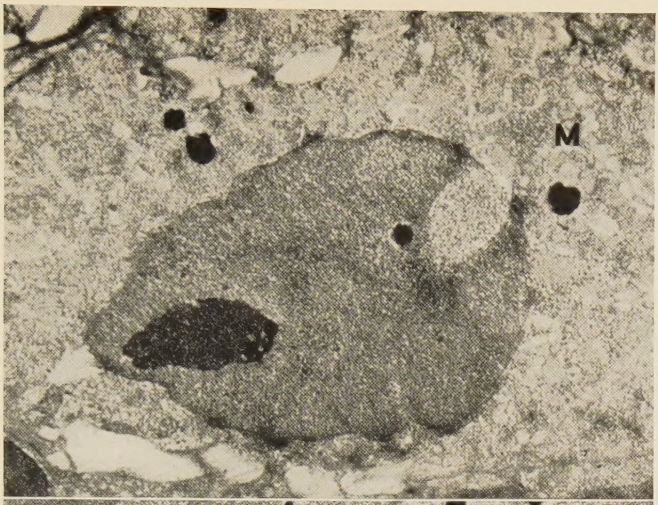

Abb. 7. Struma nodosa parenchymatosa trabecularis (3600×). Einzelne Zelle aus einem soliden epithelialen Strang. Protoplasma gleichmäßig dicht und fein strukturiert. Vereinzelte Mitochondrien (M). Kein typisches lamelliertes Ergastoplasma. Kern groß mit einem auffallend großen Nukleolus.

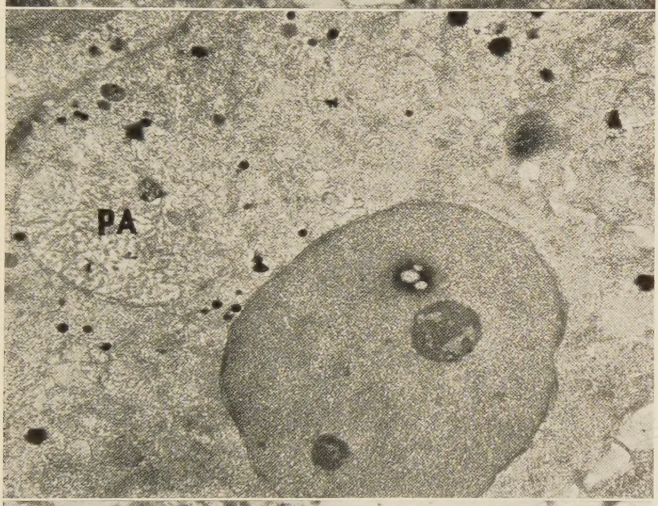

Abb. 8. Struma nodosa parenchymatosa trabecularis (4000×). Einzelne Zelle aus einem soliden schmalen Zellstrang. Protoplasma wie in Abb. 7. In einem halbkreisförmig scharf begrenzten Bezirk Protoplasmaausläufern ähnliche Strukturen (PA). Eventuell handelt es sich um ein angeschnittenes, intrazelluläres Bläschen. Kein typisches lamelliertes Ergastoplasma. Im Zellkern zwei große und dichte Nukleolen.

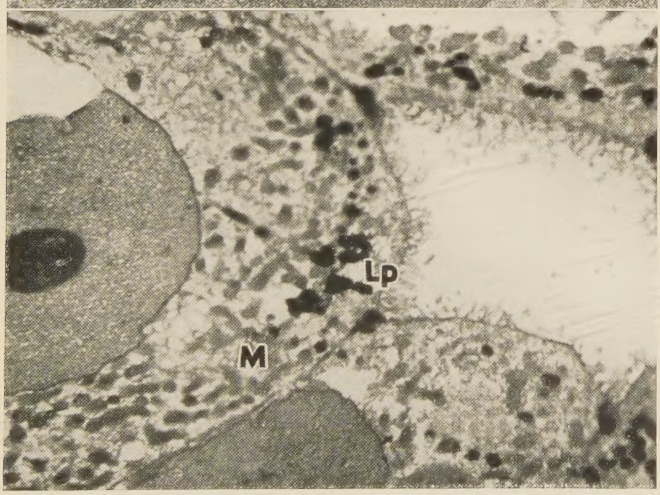

Abb. 9. Struma nodosa parenchymatosa microfollicularis (4000×). Ausschnitt aus einem kleinen Bläschen. Apicaler Zellsaum mit reichlich langen Protoplasmaausläufern. Bläschenlumen elektronenoptisch leer. Protoplasma der Epithelzellen locker mit zahlreichen mittelgroßen Mitochondrien (M) sowie reichlich apical angesammelten Lipoidtropfen (Lp). Kerne rundlich. Nukleolen groß und dunkel.

Es scheint uns wichtig, dieser Beschreibung der thiouracilbedingten, submikroskopischen Veränderungen beizufügen, daß die lokalisatorische Beurteilung auf große Schwierigkeiten stößt, einerseits wegen der außerordentlichen Polymorphie des Bläschenlumens, anderseits wegen der Bildung atypischer «parafolliculärer Zellhaufen».

In Anlehnung an die Feststellungen in den vorhergehenden Abschnitten seien nunmehr besondere Merkmale der submikroskopischen Struktur bei einzelnen pathologischen Veränderungen der menschlichen Schilddrüse beschrieben.

Struma nodosa parenchymatosa trabecularis.

Im auffallend dicht und gleichförmig strukturierten Cytoplasma sind nur einige wenige, mittelgroße Mitochondrien zu unterscheiden (Abb. 7). Ein typisches, lamelliertes, perinucleäres Ergastoplasma fehlt, ebenso deutliche Vakuolen oder Tropfen. Unerwartet ist der Befund, den Abb. 8 zeigt. Es handelt sich um einen annähernd kreisförmigen, auf der einen Seite scharf begrenzten Bezirk, welcher von dichtliegenden, doppeltkonturierten Streifen eingenommen ist. Diese erinnern in ihrer Form wie auch in ihrer Größe durchaus an die apicalen Zellausläufer normaler Follikelepithelzellen und lassen uns vermuten, daß es sich eventuell um ein flach angeschnittenes intrazelluläres Bläschen mit radiär ins Lumen vorragenden Protoplasmaausläufern handeln könnte. Wir werden auf diesen Befund bei der Besprechung der Struma maligna Langhans zurückkommen. Der Zellkern ist sehr dicht und enthält nicht selten mehrere, auffallend dichte und große Nukleolen.

Struma nodosa parenchymatosa microfollicularis.

Das elektronenoptisch leere Lumen ist von Zellen begrenzt, die sich zum Teil deutlich ins Lumen vorwölben und deren apicaler Zellsaum mit auffallend langen Protoplasmaausläufern besetzt ist (Abb. 9). Das Cytoplasma ist gegenüber dem trabeculären Knoten locker strukturiert und enthält sehr reichlich mittelgroße Mitochondrien, jedoch nur vereinzelte, kleine Vakuolen. Typisches, lamelliertes Ergastoplasma fehlt.

Struma nodosa colloides macrofollicularis.

Das Grundcytoplasma ist verdrängt durch zahlreiche, aneinandergrenzende Vakuolen, deren Inhalt elektronenoptisch weitgehend dem Bläschenkolloid entspricht. Der Feinbau der Vakuolenbegren-

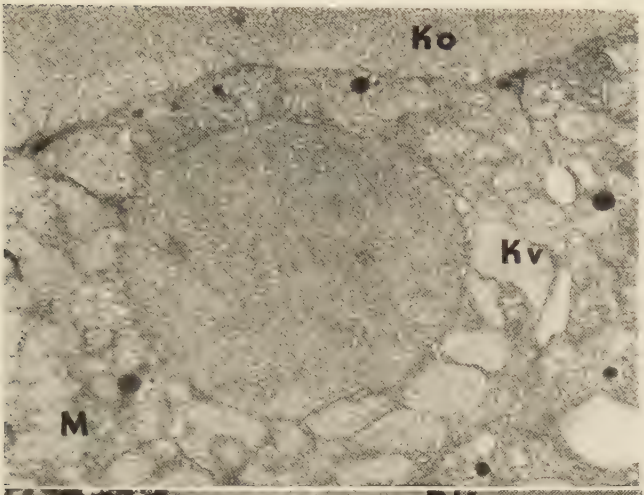

Abb. 10. Struma nodosa colloides macrofollicularis (7500×). Einzelne Follikelepithelzelle. Protoplasma weitgehend vakuolär. Begrenzung der Vakuolen (KV) durch Membranen teilweise deutlich erkennbar. Inhalt der Vakuolen durchaus dem Bläschenkolloid (Ko) entsprechend. Vereinzelte Mitochondrien (M). Kern groß, rundlich.

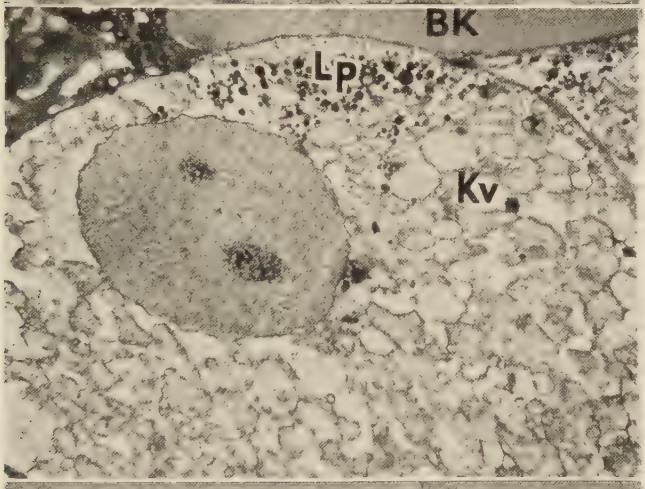

Abb. 11. Struma nodosa parenchymatosa et colloides basedowificata (4000×). Vakuolärer Aspekt des Cytoplasmas. Vakuoleninhalt (KV) elektronenoptisch dünner als das Bläschenkolloid (BK). Apical reichlich Lipoidtropfen (Lp). Vakuolenmembran und Mitochondrien durch das Herauslösen des Einbettungsmittels deformiert.

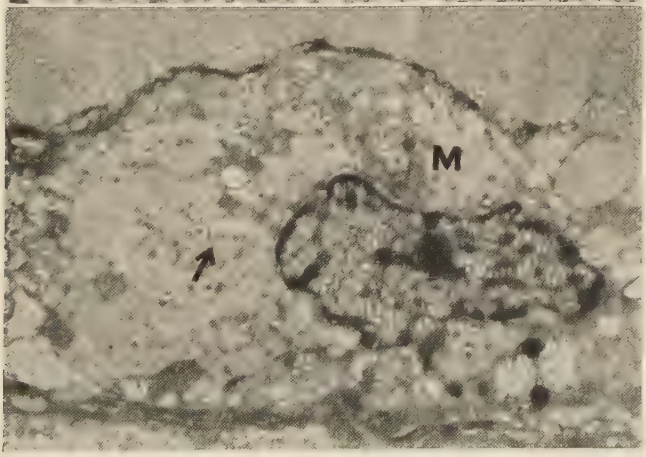

Abb. 12. Struma diffusa parenchymatosa et colloides basedowiana (5800×). Einzelne Zelle aus einem großen Follikel. Apicale Zellmembran teils sehr dicht, teils aufgelöst. Zellprotoplasma überschwemmt mit reichlich Kolloid, welches mit dem Bläschenkolloid konfluiert. Im intrazellulären Kolloid Reihen kleinster Bläschen und Schläuche (↗) sowie einzelne große Mitochondrien (M). Zellkern polymorph und leicht pyknotisch.

zung (ergastoplasmatische Membran?) ist wegen der hier angewendeten Technik (Einbettungsmittel wurde mit Amylacetat herausgelöst) nicht sicher zu beurteilen. Die Mitochondrien sind spärlich und aus dem gleichen Grunde deformiert. Apical lassen sich nur vereinzelte protoplasmatische Ausläufer erkennen. Kern rundlich, groß, gleichförmig strukturiert (Abb. 10).

Struma nodosa parenchymatosa et colloides basedowificata. (Mit klinischen Zeichen der Hyperthyreose.)

Das Zellbild läßt sich sehr gut mit den von *Dempsey* und *Peterson* publizierten ausgezeichneten Bildern von Rattenschilddrüsen vergleichen, die durch Kälte- oder Propylthiouracileinwirkung aktiviert worden waren. Diese Autoren bezeichnen den Aspekt als spitzentuchartig. Die Vakuolen verteilen sich über die ganze Zelle, sind jedoch apical häufig etwas größer, während der Vakuoleninhalt überall gleich, dem Bläschenkolloid gegenüber indessen sehr viel heller erscheint. Am apicalen Zellsaum zahlreiche Lipoidtropfen. Die Beurteilung der Vakuolenbegrenzung, der cytoplasmatischen Grundstruktur und der Mitochondrien ist wegen des Herauslösens des Einbettungsmittels unsicher. Betont sei hingegen, daß apicale Protoplasmaausläufer fehlen (Abb. 11).

Struma diffusa parenchymatosa et colloides basedowiana. Status nach monatelanger Behandlung mit Methylthiouracil.

Das Cytoplasma ist weitgehend durch Kolloid verdrängt, in welchem einzelne große Mitochondrien und Reihen kleinster Bläschen und Schläuche schwimmen (Abb. 12). Durch Schwund der apicalen Zellmembran kommt es zur Konfluenz mit dem Bläschenkolloid und zur fortschreitenden Auflösung der Zelle (Abb. 13). Zu betonen ist dabei, daß es sich nicht um desquamierte, sondern bis zur vollständigen Einschmelzung im Epithelverband verbleibende Zellen handelt. Der Zellkern zeigt mit fortschreitender Einschmelzung zunehmende Pyknose. Die beschriebenen Veränderungen bilden im untersuchten Material durchaus die Regel.

Struma maligna Langhans.

Das feingranuläre Grundcytoplasma enthält reichlich wechselnd große, rundliche oder unregelmäßig geformte Vakuolen. Diese sind zum Teil deutlich durch eine mit dunklen Granula besetzte Membran begrenzt (Abb. 14). Daneben Gruppen zum Teil zu

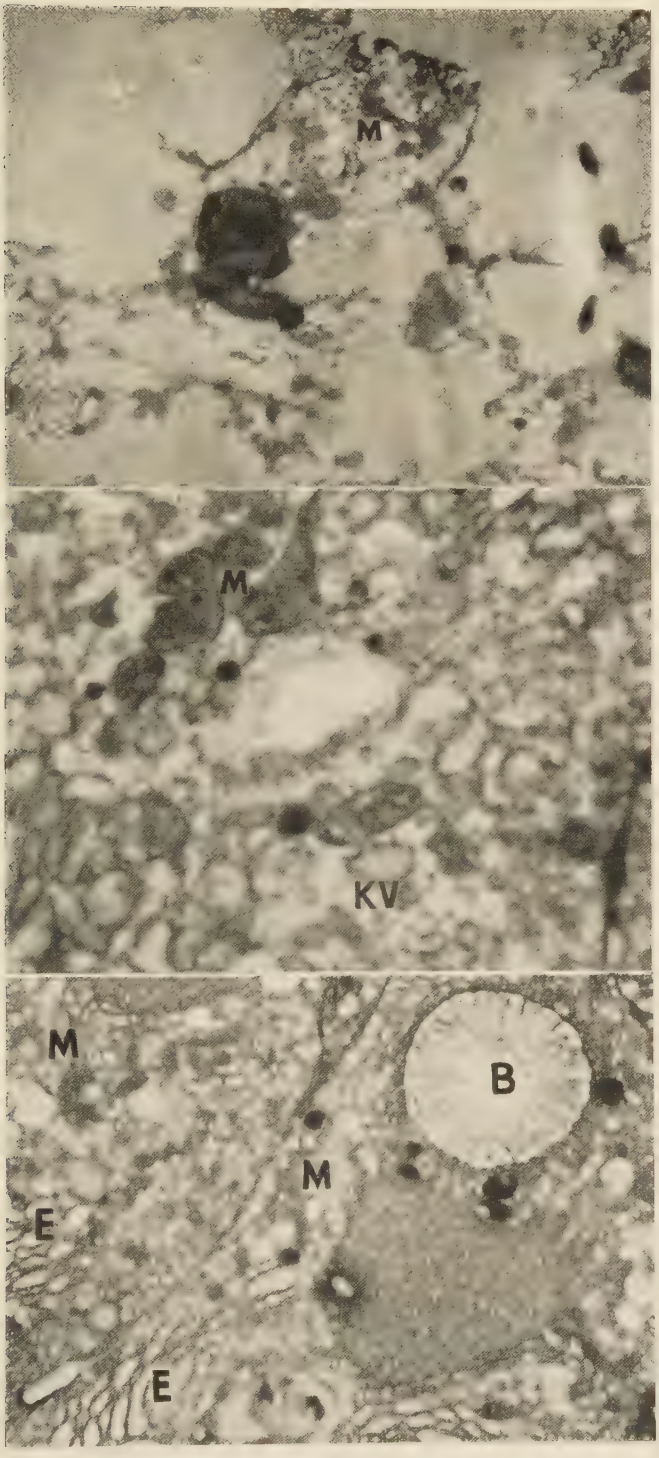

Abb. 13. Struma diffusa parenchymatosa et colloides basedowiana (4800×). Zunehmende Kolloidüberschwemmung der im Epithelverband verbleibenden Zelle. Mitochondrien groß und polymorph (M). Kern klein, pyknotisch.

Abb. 14. Struma maligna Langhans (9800×). Zellausschnitt aus einem breiten, soliden Zellstrang. Vakuolärer Aspekt des Cytoplasmas. Vakuolen (KV) z. T. durch deutlich erkennbare Membranen begrenzt, denen außen dunkle Granula angelagert sind. Mitochondrien (M) groß, polymorph mit feinlamellärer Struktur.

Abb. 15. Struma maligna Langhans (7000×). Einzelne Zelle aus einem breiten, soliden Zellstrang. Intrazellulär ein scharf begrenztes Bläschen (B), in welches Protoplasmaausläufer einstrahlen. Mäßig reichlich deutlich erkennbares, lamelliertes Ergastoplasma (E). Mitochondrien (M) groß und vielgestaltig.

Säcken erweiterter, ergastoplasmatischer Doppelmembranen und zahlreiche, meist große und unregelmäßig geformte Mitochondrien mit hie und da deutlich erkennbarer Feinstruktur aus feinsten Quermembranen. Nicht selten findet man zudem größere, intrazelluläre Bläschen, in deren scharf begrenztes Lumen wechselnd lange Protoplasmaausläufer hineinragen, wie wir sie von der normalen Follikelepithelzelle her kennen. (Abb. 15). Daß die intrazelluläre Lage dieser Bläschen vorgetäuscht sei, halten wir für unwahrscheinlich, weil einerseits der Befund recht häufig und eindeutig ist und andererseits bei extrazellulärer Lage des Bläschens das Angrenzen wenigstens eines Zwischenzellraumes an das Bläschen zu erwarten wäre. Der Zellkern ist rundlich und gleichmäßig fein strukturiert.

Diskussion.

Bei der vorausgehenden Beschreibung, wie auch bei der folgenden Diskussion stützen wir uns auf die wegleitenden Arbeiten im Gebiete der elektronenmikroskopischen Cytomorphologie von *Bernhard, Gautier* und *Rouiller, Dalton, Palade, Porter, Sjöstrand* und *Weiß* sowie auf die zusammenfassenden Monographien von *De Robertis, Nowinski* und *Saez* und *Frey-Wyßling.*

Die am apicalen Zellsaum in Bläschen sowohl des normalen Schilddrüsengewebes wie auch follikulärer Adenome auftretenden protoplasmatischen Fortsätze wurden in der Lichtmikroskopie einzig von *Traina* und in der Elektronenmikroskopie erstmals von *Monroe* beschrieben. *Braunsteiner* und Mitarb. nehmen ihren Zusammenhang mit der Rückresorption des Kolloids bzw. seiner Spaltprodukte an. Sie machen dabei die Tatsache geltend, daß sich diese Fortsätze bei der Aktivierung mit thyreotropem Hormon vor allem nach Überschreiten des Sekretionsmaximums verlängern, während *Weber, Zampi* und *Ignesti* lediglich die Längenzunahme unter der Einwirkung von thyreotropem Hormon beschreiben. Wir selber fanden, daß diese protoplasmatischen Ausläufer in mikrofollikulären Adenomen ganz besonders lang sind, während sie in großfollikulären Knoten häufig vollständig fehlen, ebenso auch in klein- bis großfollikulären, deutlich basedowifizierten Knoten. Nach längerdauernder Thiouracilbehandlung sahen wir in der Rattenschilddrüse teils sehr langen, teils fehlenden Saumbesatz. Vor allem erstaunte uns aber der Befund, daß intrazelluläre Bläschen in einer Struma maligna Langhans, vielleicht auch in einem parenchymatösen Knoten von typischen Protoplasmaausläufern um-

säumt sind. Bei all diesen Beobachtungen gilt im allgemeinen die einfache Regel, daß je dicker elektronenoptisch das Bläschenkolloid ist, desto seltener und kürzer die Zellausläufer gefunden werden und umgekehrt die längsten Protoplasmaausläufer sich bei elektronenoptisch leeren Lumina mikrofollikulärer Adenome vorfinden. Andererseits ergibt sich aus unseren Beobachtungen der Eindruck, daß bei reichlich vorhandenen intrazellulären Vakuolen die protoplasmatischen Ausläufer seltener und kürzer sind oder sogar fehlen, während besonders lange Ausläufer bei Zellen auftreten, welche keine Vakuolen aufweisen. Da diese «Regeln» jedoch Ausnahmen aufweisen und auf einem relativ geringen Beobachtungsmaterial beruhen, beschränken wir uns darauf, festzustellen, daß unsere Befunde mit der Auffassung von *Braunsteiner, Fellinger* und *Pakesch* recht gut übereinstimmen. Jedenfalls dürfte die Sicherstellung der Bedeutung der protoplasmatischen Ausläufer sehr interessante Einblicke in das Wesen und die Sekretionsmechanismen folliculärer Adenome (Gleichgewichtsstörung zwischen Sekretion und Rückresorption?) gestatten.

Die Vermehrung und Vergrößerung (Verlängerung) der *Mitochondrien* bis zur Bildung eines dichten Filzes ist also Folge der Thiouracileinwirkung in den lichtmikroskopischen Arbeiten beschrieben. Unseren Befunden entsprechend folgt dieser ersten Phase mit vorwiegender Verlängerung der Mitochondrien eine zweite Phase mit auffallender Volumenzunahme unter Verkürzung, wobei eigenartige, an Stücke zersprengter Nußschalen erinnernde Formen zustande kommen (Abb. 16). Bei entsprechender Schnittrichtung ist jedoch stets der Feinbau aus parallelen, feinsten Doppelmembranen erkennbar. Daß wenige Tage nach Absetzen der Thiouracilbehandlung neben diesen monstruösen Mitochondrien mittelgroße, normal konfigurierte Mitochondrien auftreten, läßt, da Zwischenformen fehlen, an eine reparative Neubildung denken. Ob nun das Thiouracil direkt — im Sinne einer Störung gerade in den Mitochondrien lokalisierter Fermentsysteme — oder indirekt über eine allgemeine Zellalteration einwirkt, ist nicht zu entscheiden. Polymorphe und große Mitochondrien, auch hier mit typischer Feinstruktur, kennzeichnen ferner die Struma maligna Langhans im Gegensatz zu den untersuchten gutartigen Adenomen, welche, vorausgesetzt daß keine Thiouracilbehandlung stattgefunden hat, stets mittelgroße und normal konfigurierte Mitochondrien aufweisen. Möglicherweise ist die auffallend geringe Anzahl Mitochon-

drien im trabekulären Adenom Zeichen eines stark herabgesetzten oxydativen Stoffwechsels.

Das *Ergastoplasma* als Träger der cytoplasmatischen Basophilie *(Ch. Garnier)* wurde in seiner Hohlraumstruktur von *Porter* beschrieben. *Palade* fand die den Membranen stets angelagerten, nach ihm benannten Granula, welche er als Makromoleküle von Ribonukleoprotein auffaßt. *Bernhard* und Mitarb. und *Weiß* untersuchten den Zusammenhang mit Ernährung, Wachstum und Eiweißsynthese entsprechend den Annahmen von *Ch. Garnier* aus dem Jahre 1898. *Dempsey* und *Peterson* übertrugen dann die These der sekretbildenden Funktion des Ergastoplasmas im Pankreas *(Weiß)* auf die Schilddrüse und nehmen auf Grund ihrer sehr schönen Bilder an, daß Kolloid als solches oder in Vorstufen innerhalb der ergastoplasmatischen Hohlräume gebildet wird, indem sich diese Hohlräume zu Vakuolen erweitern. Mit der Vergrößerung dieser Kolloidvakuolen nehmen nach Angabe dieser Autoren die den begrenzenden Membranen außen angelagerten *Palade*schen Granula an Zahl ab.

Wie *Dempsey* und *Peterson* sahen auch wir unter Thiouracileinwirkung das in der normalen Epithelzelle zu parallelen Doppelmembranen angeordnete Ergastoplasma zugunsten scharf begrenzter, mit kolloidähnlicher Flüssigkeit gefüllter Säcke verschwinden. Unterbricht man die Thiouracileinwirkung, so treten wenige Tage nach Absetzen des Präparates im Cytoplasma wieder reichlich, wenn auch unregelmäßig angeordnete — im Gegensatz zur normalen perinukleären Anordnung oder zur konzentrischen Schichtung zu «Nebenkernen» — ergastoplasmatische Doppelmembranen mit zahlreichen angelagerten Palade'schen Granula auf (Abb. 17). (Die Palade'schen Granula kennzeichnen sich durch ihre Dichte gegenüber Elektronenstrahlen.)

Bei den untersuchten pathologischen Schilddrüsenveränderungen des Menschen begegneten wir dem gewöhnlichen, lamellierten (der Ausdruck bezieht sich, wie im Vorhergehenden dargetan, auf den Aspekt bei geringer Vergrößerung) Ergastoplasma nur in der Struma maligna Langhans, wo die Membranen zum Teil unregelmäßig geformte, elektronenoptisch leere Hohlräume umgrenzen (Abb. 18). In allen andern untersuchten Strumen ist entweder das Cytoplasma weitgehend vakuolär (Abb. 11 und 19) — wobei teilweise die Vakuolen von deutlich abgrenzbaren Membranen umsäumt sind — oder wie bei der Struma nodosa parenchymatosa

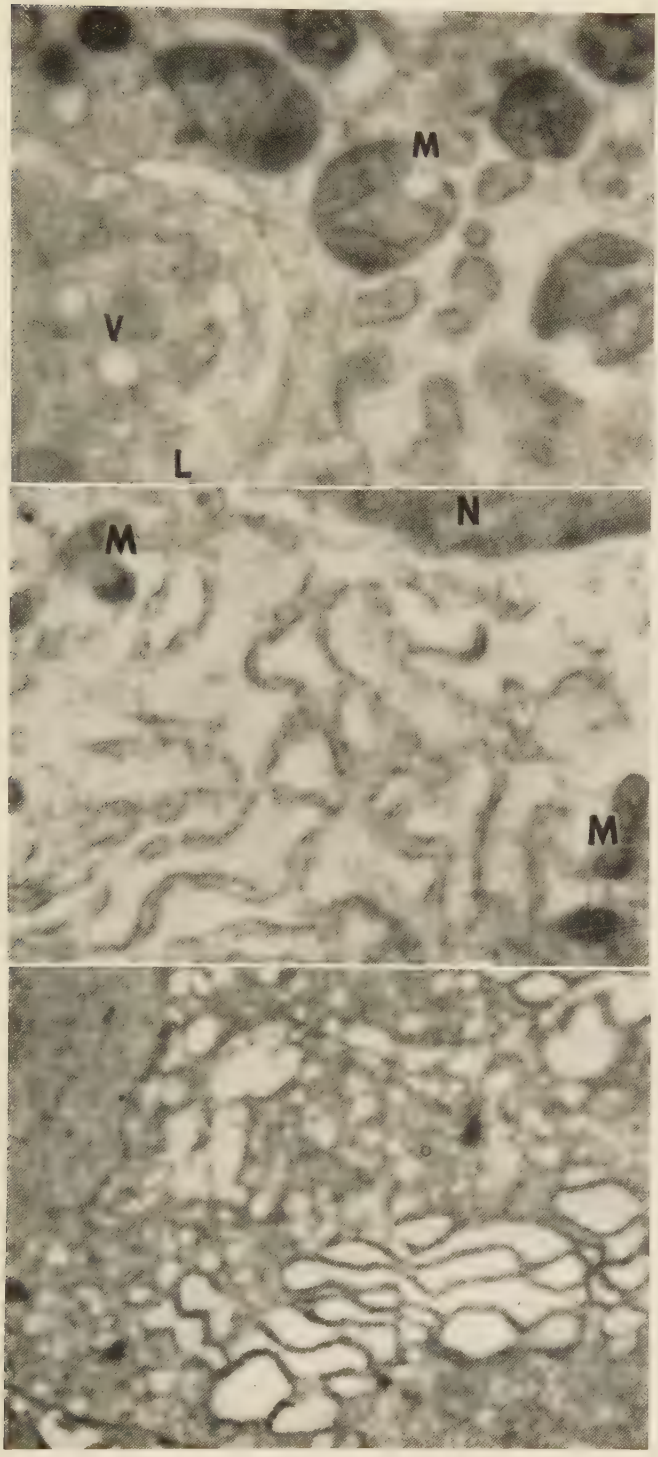

Abb. 16. Ausschnitt aus einer Follikelepithelzelle einer Rattenschilddrüse nach 4wöchiger Behandlung mit Propylthiouracil (30 000×). Große, polymorphe Mitochondrien (M), deren Feinstruktur deutlich zu erkennen ist. Ferner in einem umschriebenen Bezirk mehrere kleine, elektronenoptisch leere Vakuolen (V) und ein Lamellenbündel (L).

Abb. 17. Zellausschnitt aus dem Follikelepithel einer Rattenschilddrüse nach vierwöchiger Thiouracilbehandlung. Sektion vier Tage nach Absetzen der Medikation (18 000×). Zellkern (N) und einzelne Mitochondrien (M). Die den unregelmäßig angeordneten ergastoplasmatischen Membranen angelagerten Palade'schen Granula sind an ihrem starken Elektronenstreuvermögen zu erkennen.

Abb. 18. Struma maligna Langhans (13 500×). Vakuolärer Aspekt des Cytoplasmas. Vakuolen zum Teil als erweiterte, ergastoplasmatische Hohlräume erkennbar. Den ergastoplasmatischen Membranen außen angelagert feinste Palade'sche Granula.

dicht und gleichförmig strukturiert, ohne als Ergastoplasma anzusprechende Differenzierung. In den Adenomen also, in welchen die Kolloidsekretion in das Follikellumen im Vordergrund steht, hat der lamelläre Aspekt des Ergastoplasmas dem vakuolären Cytoplasmaaspekt Platz gemacht und das Ergastoplasma findet sich nach *Dempsey* als die Vakuolen begrenzende Membranen. Es verschwindet andererseits mit zunehmender Kolloidüberschwemmung in der pathologisch hyperaktiven Struma diffusa basedowiana. Die bezüglich Sekretion und Wachstum weitgehend ruhende Struma nodosa parenchymatosa läßt das Ergastoplasma (in seiner üblichen Form jedenfalls[2]) vermissen, während die relativ schnell wachsende Struma maligna Langhans, speziell in Zellen mit Zeichen einer sekretorischen Ausdifferenzierung (Cytoplasmavakuolen und intrazelluläre Bläschen) typisches lamelliertes Ergastoplasma aufweist.

Die durch Erweiterung ergastoplasmatischer Hohlräume entstandenen Vakuolen entsprechen sehr wahrscheinlich den im Lichtmikroskop am lebenden *(Williams)* und fixierten *(De Robertis)* Follikel beobachteten *intrazellulären Kolloidtropfen.* Ihr Inhalt ist anfänglich hell und wird mit zunehmender Größe elektronenoptisch dunkler und dem Bläschenkolloid ähnlicher. Über die eigentliche Absonderung der Vakuolen in das Follikellumen wie auch allgemein über die Sekretionsrichtung oder die lichtmikroskopisch immer wieder angeführte Umkehr der Sekretionspolarität gegen die Blutbahn zu sprechen sich *Dempsey* und *Peterson* nicht aus. *Braunsteiner, Fellinger* und *Pakesch* glauben auf Grund der Tatsache, daß sie keine in die Blutbahn übertretenden Tropfen beobachten konnten, in Anlehnung an die Ergebnisse der Autographien mit J 131 von *Leblond* und *Gross* eine basale Sekretion und eine Umkehr der nach ihrer Anschauung rein apicalen Sekretionspolarität ausschließen zu können. *Noseda* wies in seinen elektronenmikroskopischen Studien an menschlichem Schilddrüsengewebe zwei Arten intrazellulärer Vakuolen nach, welche sich nicht selten im Kolloid wiederfinden ließen und welche er als Sekretionsprodukte auffaßte. Er beschreibt sie einerseits als helle, feinstrukturierte (nach Herauslösen des Einbettungsmittels), scharf begrenzte Vakuolen und andererseits als Tropfen mit hellem Zentrum und dunkler Randzone. Wir sahen hie und da an der Zell-Kolloid-Grenze ebenfalls sowohl helle wie dunkle Tropfen (Abb. 20). Diese unterschei-

[2] Über eventuelle andere Erscheinungsformen des Ergastoplasmas siehe *Bernhard, Gautier* und *Rouiller.*

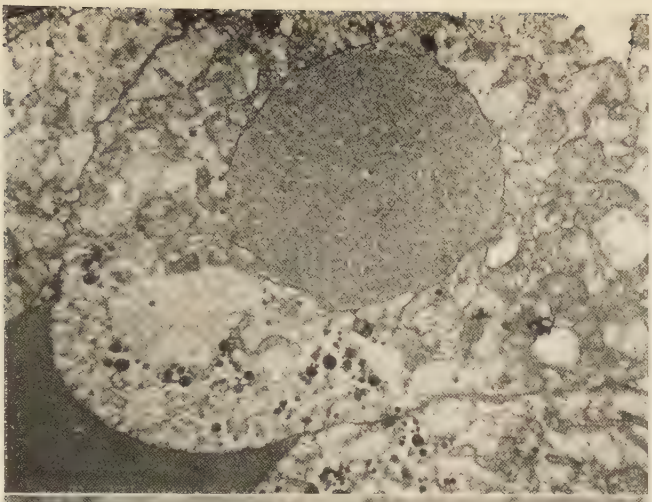

Abb. 19. Struma nodosa parenchymat. et colloides basedowificata (4400×). Vakuolärer Aspekt des Cytoplasmas wie in Abb. 11. Apical einzelne größere Vakuolen. Am apicalen Zellsaum sind keine Ausläufer zu erkennen.

Abb. 20. Apicaler Zellausschnitt aus dem Follikelepithel einer Rattenschilddrüse nach zweiwöchiger Thiouracilverabreichung (15 000×). An der Zell-Kolloid-Grenze übertretende Sekretvakuolen (KV). Es lassen sich helle Vakuolen mit deutlicher Membran und große dunklere Vakuolen sowie einzelne Zwischenformen unterscheiden.

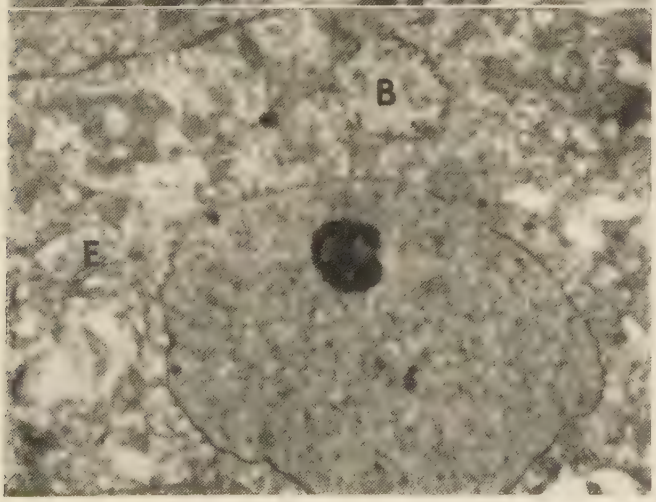

Abb. 21. Struma maligna Langhans (6000×). Einzelne Zelle aus einem soliden Zellstrang mit einem scharf begrenzten, intrazellulären Bläschen (B). Protoplasmaausläufer kürzer als in Abb. 15. Cytoplasma teilweise vakuolär mit etwas typischem, lamelliertem Ergastoplasma (E).

den sich jedoch von den von *Noseda* beschriebenen Tropfen dadurch, daß sie durchwegs homogen sind, wobei die hellen Vakuolen deutlich von einer Membran umsäumt sind, während sich bei den dunklen Tropfen kein Saum unterscheiden läßt. Indessen scheint das Vorkommen von Zwischenstufen zwischen hellen und dunklen Tropfen die Identität in der Herkunft beider Tropfenarten zu beweisen. Diese Bilder, in welchen zum Teil auch der Eindruck eines Übertrittes ganzer Vakuolen von der Zelle in das Kolloid erweckt wird, stammen von thiouracilbehandelten Rattenschilddrüsen. Wir erachten es deshalb als sehr zweifelhaft — in Anbetracht der unter Thiouracileinwirkung eintretenden Veränderungen der apicalen Zellmembran —, daß es sich um Bilder des normalen Sekretübertrittes an einer intakten Zellmembran handelt, oder mit anderen Worten, daß sich diese Befunde auf die normale Schilddrüsensekretion übertragen lassen. Dasselbe trifft zu für die einzelnen Beobachtungen, wonach Sekretionsvakuolen mit deutlicher Membran an der Basis der protoplasmatischen Fortsätze oder sogar etwas in diese eingeschoben vorgefunden werden (Abb. 5), sowie für die hie und da sichtbaren, von einer Membran umgrenzten Vakuolen im Bläschenkolloid (Abb. 20). Hingegen sind diese Bilder deshalb beachtenswert, weil sie dartun, daß sich die Vielfalt der histologischen Befunde unter bestimmten Bedingungen auch im Elektronenmikroskop widerspiegelt.

Bei den pathologisch veränderten, menschlichen Schilddrüsen zeigt das *intrazelluläre Kolloid* ein charakteristisches Verhalten. So können wir das großfollikuläre, «ruhende» Adenom, bei welchem das intrazelluläre Sekret dem Bläschenkolloid identisch ist, dem basedowifizierten, hyperaktiven Adenom gegenüberstellen, welches durch die sehr viel geringere Dichte des intrazellulären Sekretes im Vergleich zum Bläschenkolloid gekennzeichnet ist. Bei längerdauernder Thiouracilbehandlung der Ratte gleicht sich das intrazelluläre Sekret zunehmend dem Bläschenkolloid an. Diese Erscheinung finden wir wieder in der monatelang mit Methylthiouracil behandelten Struma diffusa basedowiana. Die Angleichung geht der in den Rattenversuchen nur angedeuteten, hier jedoch ausgedehnten Zelleinschmelzung voraus. Die Zelleinschmelzung an sich, mit anderen Worten der holocrine Sekretionsmechanismus, wurde zu Beginn des 20. Jahrhunderts von einigen Autoren auch für die normale Schilddrüsensekretion in Betracht gezogen. *C. Wegelin* lehnte diesen Sekretionsmechanismus für die normale Schilddrüse

ab, nahm aber an, daß unter besonderen pathologischen Umständen eine Einschmelzung möglich sei. Wie erwähnt, läßt sich bei der Ratte die Zelleinschmelzung mit Propylthiouracil bei vierwöchiger Behandlung nur andeutungsweise erzielen. Demgegenüber zeigten Versuche, die wir gemeinsam mit Herrn Prof. *Gordonoff* durchführten, daß die Verabreichung hoher Fluordosen innert weniger Tage zum ausgeprägten Bild der Zelleinschmelzung führt. Besonders interessant sind schließlich die bei der Struma maligna Langhans als Sekretionserscheinungen anzusprechenden Strukturen, welche den Begriff der autonomen und entgleisten Differenzierung maligne entarteter Zellen illustrieren.

Bei der Besprechung der durch Propylthiouracil hervorgerufenen Veränderungen in der Rattenschilddrüse erwähnten wir kurz das gelegentliche Vorkommen bestimmter submikroskopischer Strukturen in der über dem Zellkern liegenden Region (Abb. 6 und 16). Es handelt sich um Gruppen elektronenoptisch leerer Vakuolen, in deren Umgebung sich Bündel feinster paralleler Lamellen finden. Wir sind auf diese Strukturen durch die Arbeiten von *Dalton* und *Felix* und *Bernhard, Gautier* und *Roullier* aufmerksam gemacht worden, welche als besonderes Kennzeichen dieser Membranen angeben, daß ihnen keine *Palade*schen Granula angelagert sind, was sie von den ergastoplasmatischen Membranen deutlich unterscheidet. Diese Autoren nehmen wegen der stets supranukleären Lokalisation dieser Strukturen an, daß es sich dabei möglicherweise um das elektronenmikroskopische Äquivalent der *Golgi*-Substanz handelt. In der thiouracilbehandelten Rattenschilddrüse hat nun *Dempsey* entsprechende Strukturen beobachtet, und wir glauben, daß in einigen unserer Bilder — ebenfalls von Propylthiouracil-behandelten Rattenschilddrüsen — ähnliche Strukturen vorliegen könnten. Eine sichere Beurteilung ist uns aber wegen des geringen unseren Bildern zugrunde liegenden Auflösungsvermögens (Schnittdicke ca. 0,1 μ) nicht möglich. Daß man gerade bei der Thiouracileinwirkung auf solche Strukturen stößt, wäre damit zu erklären, daß, wie aus lichtmikroskopischen Untersuchungen hervorgeht, unter Thiouracileinwirkung die Golgi-Substanz sich stark vermehrt. Da vorläufig über die Einheitlichkeit dieser Strukturen wie auch über ihre funktionelle Bedeutung (Mitwirkung beim Stoffwechsel oder bei der Sekretion? Katalysatorwirkung?) vollständige Unkenntnis herrscht, gehen wir nicht weiter auf den fraglichen Befund ein.

Bezüglich der Kernveränderungen haben wir bereits auf die lichtmikroskopisch bekannten Veränderungen im Sinne der Polymorphie und Pyknose bei der Thiouracileinwirkung hingewiesen. Ein weiteres Eingehen auf die beobachteten Kernstrukturen erübrigt sich unseres Erachtens, da die diesbezüglichen, submikroskopischen, cytomorphologischen Kenntnisse, insbesondere auch was den Effekt der Fixation betrifft, sehr gering sind. Wir führen deshalb nur den interessanten Befund an, daß beim parenchymatösen Adenom, wo Ergastoplasma (als Träger des cytoplasmatischen Ribonukleoproteins) in seiner gewöhnlichen Form fehlt, oft mehrere, auffallend große und elektronenoptisch dunkle Nukleolen angetroffen werden. Man könnte dabei denken, daß es sich um eine übermäßige Ansammlung von Ribonukleoprotein im Nukleolus auf Kosten des cytoplasmatischen Ribonukleoproteins handelt (Abb. 7, 8, 9).

Zusammenfassung.

Anhand elektronenmikroskopischer Beobachtungen an ca. 150 Dünnschnitten von 12 lebensfrischen Strumectomiepräparaten wird über das submikroskopische Bild einzelner pathologischer Schilddrüsenveränderungen berichtet. Zum Vergleich werden Beobachtungen an der Schilddrüse normaler oder längere Zeit mit Propylthiouracil behandelter Ratten beschrieben.

Die Diskussion befaßt sich speziell mit der submikroskopischen Erscheinungsform der cytoplasmatischen Zellausläufer, der Mitochondrien, des Ergastoplasmas und der intrazellulären Sekretionsprodukte unter pathologischen Bedingungen und mit deren möglicher Bedeutung.

Résumé.

Environ 150 coupes minces issues du matériel frais de 12 strumectomies ont été examinées au microscope électronique. L'image submicroscopique de quelques altérations thyroïdiennes pathologiques est décrite. Des thyroïdes de rats normaux ou traités pendant un certain temps au propyle-thiouracile ont servi de témoins.

Les formes submicroscopiques des prolongements cellulaires cytoplasmatiques, des mitochondries, de l'ergastoplasme et des produits de sécrétion intracellulaires apparaissant dans des conditions pathologiques sont discutées ainsi que leur signification éventuelle.

Summary.

About 150 fine sections taken from 12 freshly obtained strumectomy specimens have undergone electromicroscopic observations and the submicroscopic pictures of various pathological changes in the thyroid gland are reported. In order to get a comparison, normal or for a longer time with propylthiouracil treated thyroids of rats are also described. The discussion deals especially with the submicroscopic appearance of the cytoplasmatic cell prolongations, the mitochondria, the ergastoplasma, the intracellular secretion products under pathological conditions and their possible importance.

Literatur.

Astwood, E. B., A. Bissel, and *A. M. Hughes:* Endocrinology *37,* 456, 1945. — *Bernhard, W., A. Gautier* et *Ch. Rouiller:* Arch. anat. exp. morph. exp. *43,* 236, 1954. — *Bernhard, W., F. Hagenau, A. Gautier* und *C. Oberling:* Z. Zellforsch. *37,* 281, 1952. — *Braunsteiner, H., K. Fellinger,* and *F. Pakesch:* Endocrinology *53,* 123, 1953. — *Id.:* Z. Mikroskopie *62,* 173, 1955. — *Dalton, A. J.:* Amer. J. Anat. *89,* 108, 1951. — *Dalton, A. J.,* and *Marie D. Felix:* Ibid. *94,* 171, 1954. — *Danon, D.:* Etude comparative des techniques histologiques pour le microscope électronique par la méthode des coupes minces. Thèse méd. Genève 1952. — *Dempsey, Ed. W.,* and *R. R. Peterson:* Endocrinology *56,* 46, 1955. — *Dempsey, Ed. W.,* and *M. Singer:* Endocrinology *38,* 270, 1946. — *De Robertis, E.:* Amer. J. Anat. *68,* 317, 1941. — *De Robertis, E., W. Nowinski,* and *A. Saez:* General Cytology. Saunders, Philadelphia 1954. — *Frey-Wyßling, A.:* Die Submikroskopische Struktur des Cytoplasmas; in: Protoplasmatologia, Bd. II A 2. Springer, Wien 1955. — *Garnier, Ch.:* Contribution à l'étude de la structure et du fonctionnement des cellules glandulaires séreuses. Du rôle de l'ergastoplasme dans la sécrétion. Thèse méd., Nancy 1898-99. — *Mc Gavack, Th. H.:* The Thyroid. Mosby, St. Louis 1951. — *Means, J. H.:* The Thyroid and its diseases. 2nd Ed. Lippincott Comp., Philadelphia 1948. — *Leblond, C. P.,* and *J. Gross:* Endocrinology *43,* 306, 1948. — *Levitt, T.:* The Thyroid. Livingstone Ltd., Edinburgh and London 1954. — *Monroe, Barbara G.:* Anat. Rec. *116,* 345, 1953. — *Newman, S. B., E. Borysko,* and *M. Swerdlow:* J. Res. Nat. Bureau Standards *43,* 183, 1949. — *Noseda, J.:* Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der normalen Schilddrüse mit besonderer Berücksichtigung der Sekretionsvorgänge. Med. Diss., Bern 1953; Z. mikr. anat. Forsch. *60,* 190, 1954. — *Palade, G. E.:* J. exp. Med. *95,* 285, 1951. — *Palade, G. E.,* and *K. R. Porter:* Anat. Rec. *112,* 370, 1952. — *Ponse, K.:* Ann. Endocrin. *12,* 266, 1951. — *Porter, K. R.:* J. exp. Med. *97,* 727, 1953. — *Sjöstrand, F. S.:* Z. wiss. Mikroskopie *62,* 65, 1955. — *Traina, R.:* Anat. Anz. *35,* 554, 1910. — *Vanderlaan, W. P.,* and *A. Bissel:* Endocrinology *39,* 157, 1946. — *Weber, G., G. Zampi* e *C. Ignesti:* Arch. «de Vecchi» *22,* 297, 1954. — *Wegelin, C.:* Die Schilddrüse. In Hdb. spez. path. Anat. u. Hist. (Henke-Lubarsch). Springer, Berlin 1926. — *Id.:* Helv. med. Acta *15,* 3, 1948. — *Weiss, J. M.:* J. exp. Med. *98,* 607, 1953. — *Williams, R. G.:* Amer. J. Anat. *75,* 95, 1944.